细胞融合的扫描电镜初步观察

何 申 周海清 王瑞瑜 王春景 李 梅

郭振泉

(中国医学科学院基础医学研究所细胞生物室)

(北京大学生物系)

扫描电镜能使被观察物体呈现明显的三维结构特征。培养的单层细胞是展示在眼前的一层完整细胞,适于用扫描电镜观察其立体形态。形态的变化更宜于用扫描电镜进行观察及摄影以便分析。为此,我们将三种培养细胞进行自家融合,得到所形成的同核体,除用相差显微镜、染色标本及缩时电影进行分析之外,还进行了扫描电镜的观察。

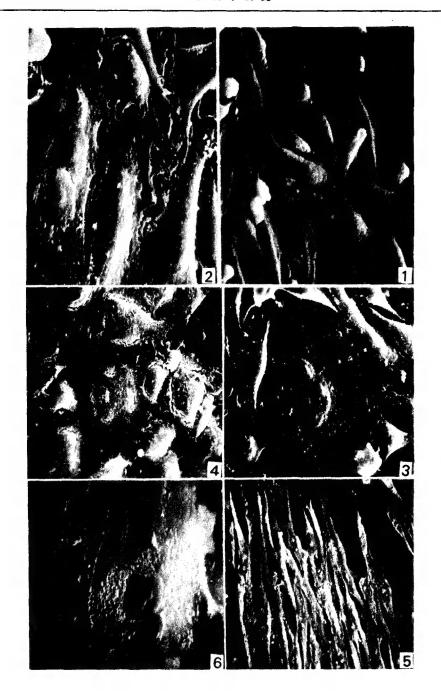
将人肝癌 BEL—7402细胞、中国地鼠卵巢 CHO细胞及人胚肺二倍体 2B S细胞培养在瓶内的盖玻片上。细胞贴瓶后又培养一天,增殖成半致密状态。此时取下盖片,分别以4000毫克分子量的聚乙二醇 (PEG)加二甲基亚砜 (DMSO) 处理。三种细胞的处理时间分别为90秒,105秒及130秒。用戊二醛及锇酸两次固定之后,于相差镜下选择细胞融合较密集的地方圈出,以便后来在扫描电镜下观察。标本经逐步脱水,完成临界点干燥、喷金各步骤。

在扫描电镜(S₄—10)下,三种细胞均有明显的融合情况。这里看到三个(图 2,6)至四或五个核(图 3,4)聚拢,胞质合併。2 BS细胞在PEG处理前(图 5)为长梭形,核有 1—2个核仁。在处理后(图 6),见到一个三核细胞,未全聚拢的核显然是在一个细胞内,核凸出,其上更有凸出的核仁,形态清楚。CHO细胞在处理前为铺开的长形细胞,半铺开的梭形或三角形细胞,及园形多微绒毛的分裂细胞。经处理后,看到有三核排成一串或四核聚成簇(图 2,3)的细胞。在隆起的核上各有一团凸出的核仁,形态及轮廊均不及 2 BS的清楚。其它细胞显然尚未融合。形态似未处理的细胞。在BEL—7402细胞(图 4),除中央的多核细胞外,可能在左及上方的大细胞也是融合的,但只中央细胞有约五个核的成簇隆起。但形态不清楚。根据 Bell (1980)细胞内的核及核仁因制作标本时经受空气干燥的作用而人为地使细胞膜塌陷,笼罩在核及核仁上,恰好刻划出核及核仁的轮廊。这种作用在三种细胞上的反映不同。核及核仁凸出的现象染色标本上看不到。这是用扫描电镜术观察融合细胞时所特有的情况。

Clark观察 L—929细胞经 PEG及 DM S O处理后,细胞表面的微绒毛显著减少。在这里,只有 CHO融合细胞(图 4)上的微绒毛是如此,在图 2的融合细胞上有一些减少。2 BS(图 5)细胞上很少微绒毛。在处理后(图 6)也没有微绒毛。微绒毛变化的意义有待进一步研究。

Bell (1980)认为标本制作过程中不适当的脱水可造成细胞表面的裂痕及小凹陷。在图 4 各细胞核隆起的周围,在图 2 中,右核之间,均有裂痕;图 6 核周有许多小凹陷,可能是操作中产生的人为假象,需要进一步证实。

动物学研究



图版说明

图1. CHO细胞 未经 PEG处理, ×600 图2. CHO细胞 经过 PEG处理, ×1350 图3. CHO细胞 经过 PEG处理, ×900

图4.7402细胞 经过PEG处理, ×336

图5.2BS细胞 未经PEG处理, ×300 图6.2BS细胞 经过PEG处理, ×1020